CE 0843

FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Cytomegalovirus
Clones CCH2 + DDG9
Ready-to-Use
(Link)

Nº de catálogo IR752

Uso previsto

Para uso en diagnóstico *in vitro*.
FLEX Monoclonal Mouse Anti-Cytomegalovirus, Clones CCH2 + DDG9, Ready-to-Use (Link), está indicado para su uso en inmunohistoquímica junto con los instrumentos Autostainer Link. Este anticuerpo resulta útil en la identificación de tejidos infectados por el citomegalovirus humano (HCMV) (1, 2). La interpretación de los resultados de cualquier tinción o su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos con controles adecuados y debe evaluarla un anatomopatólogo cualificado en el contexto de la historia clínica del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Resumen y explicación

El citomegalovirus humano es un virus herpes ampliamente distribuido. La infección primaria se suele producir en la niñez, donde normalmente cursa de forma asintomática. Tras la exposición inicial, el virus crea una infección vitalicia. En neonatos, así como en pacientes inmunodeprimidos, como pueden ser los pacientes con SIDA o sometidos a trasplantes, el HCMV puede provocar infecciones graves potencialmente mortales, y se presenta como la causa más común de anomalías congénitas víricas (5, 6).
El anticuerpo CCH2 (1) reacciona con una proteína nuclear temprana idéntica a la proteína no estructural de unión al ADN p52 (7). El anticuerpo DDG9 reacciona con una proteína nuclear temprana inmediata de unos 76 kDa (3). En el caso de ambos anticuerpos, la reactividad persiste también en las etapas más avanzadas, durante la infección por HCMV, en la que la localización es menos claramente nuclear y parece producirse en el citoplasma. Sin embargo, la microscopía láser confocal muestra que la reacción se limita a la membrana nuclear (3). Los anticuerpos no presentan reactividad cruzada con el adenovirus, virus del herpes simple o virus de la varicela zoster (3).
Consulte las *Instrucciones generales para la tinción inmunohistoquímica* de Dako o las instrucciones del sistema de detección de los procedimientos de IHQ para: 1) Principio del procedimiento, 2) Material necesario pero no suministrado, 3) Almacenamiento, 4) Preparación de la muestra, 5) Procedimiento de tinción, 6) Control de calidad, 7) Solución de problemas, 8) Interpretación de la tinción , 9) Limitaciones generales.

Reactivo suministrado

Mezcla lista para usar de dos anticuerpos monoclonales de ratón suministrada en forma líquida como sobrenadante de cultivo celular, dializada contra 0,05 mol/L de Tris/HCl, 0,015 mol/L de NaN_3, pH 7,2.
Clones: CCH2 + DDG9 (3). Isotipo: IgG1, kappa (CCH2) y IgG2a, kappa (DDG9).

Inmunógeno

Lisados celulares brutos de fibroblastos embrionarios humanos infectados con la cepa Ad169 del citomegalovirus (3).

Especificidad

El anticuerpo CCH2 reacciona con una proteína nuclear temprana idéntica a la proteína no estructural de unión al ADN p52 (7). Este anticuerpo ha servido para tipar más de 200 cepas de CMV humanas que, por consiguiente, parece reconocer un epítopo altamente conservado entre las cepas de HCMV (3, 4).
El anticuerpo DDG9 reacciona con una proteína nuclear temprana inmediata de unos 76 kDa (3).
En el caso de ambos anticuerpos, la reactividad persiste también en las etapas más avanzadas, durante la infección por HCMV, en la que la localización es menos claramente nuclear y parece producirse en el citoplasma. Sin embargo, la microscopía láser confocal muestra que la reacción se limita a la membrana nuclear (3).
Los anticuerpos no presentan reactividad cruzada con el adenovirus, virus del herpes simple o virus de la varicela zoster (3).

Precauciones

1. Para usuarios profesionales.
2. Este producto contiene azida sódica (NaN_3), un compuesto químico altamente tóxico en su forma pura. Aunque a las concentraciones presentes en el producto no está clasificado como peligroso, la azida de sodio puede reaccionar con cañerías de plomo y cobre formando acumulaciones de azidas metálicas altamente explosivas. Una vez desechado el producto, deje correr abundante cantidad de agua para evitar acumulaciones de azidas metálicas en las cañerías.
3. Al igual que con cualquier producto derivado de fuentes biológicas, deberán aplicarse procedimientos adecuados de manejo.
4. Utilice el equipo de protección personal adecuado para evitar el contacto con los ojos y la piel.
5. La solución no utilizada debe desecharse con arreglo a las normativas locales, provinciales y nacionales.

Almacenamiento

Almacenar a 2–8 ℃. No utilizar después de la fecha de caducidad impresa en el vial. Si los reactivos se almacenan en condiciones diferentes a las especificadas, el usuario debe comprobarlas. No existen signos evidentes que indiquen inestabilidad de este producto. Por lo tanto, los controles positivo y negativo deberán realizarse de manera simultánea con las muestras del paciente. En caso de observarse una coloración inesperada que no pueda ser explicada por las variaciones en los procedimientos del laboratorio y se sospecha un problema con el anticuerpo, comuníquese con la Asistencia Técnica de Dako.

Preparación de las muestras incluido material necesario pero no suministrado

El anticuerpo puede utilizarse para marcar cortes de tejido fijados con formol e incluidos en parafina. Las muestras de tejido deben cortarse en secciones de aproximadamente 4 µm.
Se requiere el tratamiento previo con recuperación del epítopo inducida por calor (HIER) usando Dako PT Link (nº de catálogo PT100/PT101). Para más detalles, consulte la Guía del usuario de PT Link. Se obtienen resultados óptimos al pretratar los tejidos con EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (nº de catálogo K8000/K8004).

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17

Cortes incluidos en parafina: se recomienda el tratamiento previo de los cortes de tejido fijados en formol e incluidos en parafina siguiendo el procedimiento de preparación de la muestra 3 en 1 para Dako PT Link. Siga el procedimiento previo al tratamiento explicado en el prospecto de la EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (nº de catálogo K8000/K8004). Nota: Después de la tinción, se deben deshidratar, enjuagar y montar los cortes usando un medio de montaje permanente.

Cortes desparafinados: se recomienda el tratamiento previo de los cortes de tejido desparafinados, fijados en formol e incluidos en parafina usando Dako PT Link y siguiendo el mismo procedimiento descrito para los cortes incluidos en parafina. Tras la tinción, los portaobjetos deben montarse utilizando un medio de montaje acuoso o permanente.

Los cortes de tejido no se deben secar durante el tratamiento ni durante el siguiente procedimiento de tinción inmunohistoquímica. Para una mejor adherencia de los cortes de tejidos a los portaobjetos, se recomienda el uso de FLEX IHC Microscope Slides (nº de catálogo K8020).

Procedimiento de tinción incluido material necesario pero no suministrado

El sistema de visualización recomendado es EnVision™ FLEX, High pH (Link) (nº de catálogo K8000). Los pasos de tinción y los tiempos de incubación han sido preprogramados en el software del Autostainer Link. El volumen de reactivo recomendado es de 1 x 200 µL o 2 x 150 µL por portaobjetos. Consulte la Guía del usuario del Autostainer Link para ver instrucciones detalladas sobre la carga de portaobjetos y reactivos. Si todavía no están disponibles los protocolos en la plataforma del Autostainer utilizada, comuníquese con el servicio técnico de Dako. Todos los pasos de incubación deben realizarse a temperatura ambiente.

Las condiciones óptimas pueden variar según la muestra y el método de preparación, y deberán determinarse individualmente en cada laboratorio. Si el patólogo encargado de la evaluación desea otra intensidad de tinción, se pueden ajustar los tiempos de incubación y la elección del sistema de visualización EnVision™ FLEX/EnVision™ FLEX+. Se puede solicitar información a un especialista en aplicaciones de Dako o a un especialista del servicio técnico para reprogramar el protocolo. Verifique que el rendimiento del protocolo ajustado siga siendo válido confirmando que el patrón de tinción sea idéntico al descrito en "Características de resultados".

Se recomienda la contratinción en hematoxilina usando EnVision™ FLEX Hematoxylin (Link) (nº de catálogo K8008). Se recomienda un medio de montaje no acuoso permanente.

Los controles positivo y negativo deberán realizarse de manera simultánea empleando el mismo protocolo que para las muestras del paciente. El tejido de control positivo debe incluir tejidos infectados por HCMV, y las células y estructuras deben mostrar patrones de reacción como se describe para este tejido en "Características de resultados" en todas las muestras positivas. El reactivo de control negativo recomendado es FLEX Negative Control, Mouse (Link) (nº de catálogo IR750).

Interpretación de la tinción

El patrón de tinción celular es una reacción intranuclear intensa. Es posible observar tinción citoplasmática.

Características de resultados

Las células marcadas por el anticuerpo muestran un patrón de tinción nuclear en las etapas tempranas de la infección por el HCMV. En las fases más avanzadas, puede observarse un posible patrón de tinción citoplásmica (3).

Tejidos normales: una evaluación de tejidos humanos normales procedentes de donantes sin infección con HCMV mediante el anticuerpo CCH2 no mostró reacción alguna con corazón, pulmón, hígado, riñón, bazo, ganglios linfáticos, amígdala, médula ósea, músculo esquelético, cerebro, tiroides y glándulas paratiroides (1).

Tejidos anormales: en tejidos infectados con HCMV, el anticuerpo CCH2 marcó células de pulmón, hígado, riñón, ganglios linfáticos, cerebro, tiroides y glándulas paratiroides (1). Los anticuerpos CCH2 y DDG9 utilizados juntos marcaron tejidos infectados con HCMV del esófago, estómago, intestino delgado, colon, vesícula biliar, pulmón, glándula suprarrenal, ovarios y tejido neural (2).

Referencias bibliográficas

1. Niedobitek G, Finn T, Herbst H, Gerdes J, Grillner L, Landqvist M, et al. Detection of cytomegalovirus by in situ hybridization and immunohistochemistry using new monoclonal antibody CCH2: a comparison of methods. J Clin Pathol 1988; 41:1005-9.
2. Saiz E, Lubin J, Robinson MJ. The modified Steiner stain: a new use for an old stain? Staining cytomegalovirus-infected cells in gastrointestinal biopsies. Histochem J 1998; 30:549-52.
3. Wirgart BZ. Development of rapid methods for early diagnosis of cytomegalovirus infections [dissertation]. Stockholm: Karolinska Hospital; 1991.
4. Wirgart BZ, Landqvist M, Hökeberg I, Eriksson B-M, Olding-Stenkvist E, Grillner L. Early detection of cytomegalovirus in cell culture by a new monoclonal antibody, CCH2. J Virol Methods 1990; 27:211-20.
5. Doniger J, Muralidhar S, Rosenthal LJ. Human cytomegalovirus and human herpes virus 6 genes that transform and transactivate. Clin Microbiol Rev 1999; 12:367-82.
6. Jarvis MA, Nelson JA. Human cytomegalovirus persistence and latency in endothelial cells and macrophages. Curr Opin Microbiol 2002; 5:403-7.
7. Plachter B, Nordin M, Wirgart BZ, Mach M, Stein H, Grillner L, et al. The DNA-binding protein P52 of human cytomegalovirus reacts with monoclonal antibody CCH2 and associates with the nuclear membrane at late times after infection. Virus Res 1992;24: 265-76.

Explicación de los símbolos

REF	Referencia	2 °C 8 °C	Limitación de temperatura		Fecha de caducidad
IVD	Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*	Σ	Contiene suficiente para <n> ensayos		Fabricante
	Consulte las instrucciones de uso	LOT	Código del lote		

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17